

тела и массу общего абдоминального жира животных приближалась к препарату сравнения метформину, что является важной особенностью при длительном применении в лечении СД 2-го типа.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, ожирение, метформин, густой экстракт фасоли.

Стаття надійшла 09.02.2015 р.

effectiveness of the TBE to reduce the body weight and total weight of animal's abdominal fat has been approaching to the reference drug metformin, which is an important feature of a long-term use in the treatment of type 2 diabetes.

Key words: type 2 diabetes mellitus, obesity, metformin, the thick beans extract.

Рецензент Бобирьев В.М.

УДК 616-002 – 008.953-092

З. І. Савчук

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України», м. Тернопіль

ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У КРОЛІВ З ХІМІЧНИМ ОПІКОМ РОГІВКИ НА ТЛІ МЕРКАЗОЛІЛ-ІНДУКОВАНОГО ГІПОТИРОЗУ

Для вивчення впливу експериментального гіпотирозу на стан ендогенної інтоксикації у кролів з хімічним опіком рогівки було проведено визначення маркерів ендогенної інтоксикації – молекул середньої маси, еритроцитарного і лейкоцитарного індексів інтоксикації, а також досліджено активність лізосомальних протеаз – катепсину D і кислоти фосфатази. Гіпотироз у кролів викликали уведенням мерказолілу в дозі 10 мг/кг протягом 60 діб. Хімічний опік рогівки моделювали шляхом аплікації фільтрувального паперу, змоченого 1 N NaOH протягом 30 секунд. Опікова травма у кролів на тлі гіпотирозу супроводжувалась пригнічення активності лізосомальних ферментів – катепсину D і кислоти фосфатази у гомогенаті рогівки та інтенсивнішим, у порівнянні з евтироїдними тваринами, маркерів ендогенної інтоксикації – молекул середньої маси, еритроцитарного і лейкоцитарного індексів інтоксикації.

Ключові слова: запалення пародонта, гіпотироз, ендогенна інтоксикація.

Робота є фрагментом НДР кафедри оториноларингології, офтальмології та нейрохірургії «Нові підходи у діагностиці та лікуванні пацієнтів з хворобами голови та шиї», №0113U001611.

Порушення функціонального стану щитоподібної залози набули широкого розповсюдження. Літературні дані свідчать про вплив дисфункції щитоподібної залози на перебіг багатьох патологічних процесів, а їх ступінь і вираженість у значній мірі залежать від тяжкості та тривалості гіпотирозу [1-3, 9, 10]. Недостатньо вивчена роль гормонів щитоподібної залози в реалізації функціональної активності клітин імунної системи визначила актуальність вивчення особливостей перебігу запалення на тлі гіпотирозу [15, 19, 20, 21, 22]. Патологічний процес, що триває на тлі гіпотирозу, має певні особливості формування і перебігу. Ці зміни зумовлені зниженням функціональної активності клітин, що беруть участь у формуванні запальної відповіді [14, 18, 19, 20].

Поряд з порушенням енергозабезпечення клітин і тканин, розладами водно-електролітного обміну та кислотно-основного стану в розвитку опікової травми незмінно присутній ще один комплекс патогенних факторів. Його розвиток визначається тим, що патологічний процес спричиняє ініціацію або провокує ряд гуморальних і функціональних розладів. Шкідлива дія цих чинників визначається накопиченням токсичних субстанцій, що утворюються в самому організмі і може бути названа ендогенною інтоксикацією. Ендогенними токсичними субстанціями можуть бути звичайні речовини і молекулярні комплекси фізіологічної природи, кількість яких в організмі перевищує межі норми, так і незвичайні, зумовлені патологічним процесом субстанції. Але навіть у випадку значного накопичення фізіологічних субстанцій при виникненні ендогенної інтоксикації правильніше говорити про несприятливий для даного організму перебіг обмінних процесів [7, 23].

Ендогенна інтоксикація, як правило, викликається не однією ендотоксичною субстанцією, яку можна вважати пусковим фактором цього явища, а декількома, які так чи інакше надходять у кров хворого. Це відбувається або шляхом безпосереднього проникнення в кровеносні капіляри, прилеглі до місця утворення таких субстанцій, або опосередковано через тканинну рідину і лімфатичний дренаж [4].

З метою вивчення стану ендогенної інтоксикації ми використали модель запального процесу пародонта на тлі експериментального гіпотирозу.

Метою роботи було дослідження впливу зниженої продукції тироїдних гормонів на стан ендогенної інтоксикації і активність лізосомальних ферментів в організмі тварин з гострим експериментальним пародонтитом.

Матеріал та методи дослідження. Досліди проведені на статевозрілих кролях породи “Білий великан” масою тіла 2,5–3 кг, у відповідності з Женевською конвенцією “International Guiding principles for Biochemical research involving animals” (Geneva, 1990) та згідно із Загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001). Тварини утримувались на стандартному раціоні віварію [6]. В процесі роботи використано 60 кролів.

Гіпотироз моделювали згідно з рекомендаціями [11]. Кролям внутрішньошлунково через металевий зонд вводили мерказоліл (Здоров’я, Україна) у дозі 10 мг/кг у 2%-му розчині крохмалю протягом 60-ти днів. Тварини знаходились в умовах, аналогічних усім експериментальним групам, та отримували той же самий харчовий раціон. Масу кролів контролювали щотижня, корекцію доз мерказолілу проводили відповідно до зміни маси тіла. Повноту досягнення гіпотирозу контролювали вимірюванням концентрації трийодтироніну і тироксину в сироватці крові, а також за масою тварин і їх руховою активністю. До групи порівняння входили тварини, яким мерказоліл не вводили. Опікову травму викликали шляхом аплікації на рогівку експериментальних тварин фільтрувального паперу діаметром 5 мм, змоченого у 1 N розчині натрій гідроксиду (NaOH) протягом 30 секунд. Маніпуляції проводили під місцевою епібульбарною анестезією 0,5 % розчином алкаїну та ретробульбарною анестезією 2 % розчином лідокаїну.

Всі піддослідні кролі були поділені на 4 групи: 1 – контрольна група (інтактні тварини); 2 – тварини із мерказоліл-індукованим гіпотирозом; 3 – тварини з хімічним опіком рогівки (термін спостереження 24 год, 7, 14 і 21 доба після травми); 4 – тварини з хімічним опіком рогівки на тлі попередньо змодельованого гіпотирозу у ці ж терміни спостереження.

Групами порівняння служили тварини з експериментальним гіпотирозом і евтородні кролі з хімічним опіком рогівки. Контролем служив матеріал від інтактних тварин.

Ступінь вираженості ендотоксемії оцінювали за вмістом молекул середньої маси (МСМ) у сироватці крові, де МСМ1 – це вміст молекул середньої маси, визначений при довжині хвилі 254 нм, а МСМ2 – при довжині хвилі 280 нм [13], а також вираженість пошкодження еритроцитарної мембрани розраховували еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ) [12]. Розраховували також модифікований лейкоцитарний індекс інтоксикації за методикою Б.А. Рейса [8].

Активність катепсину D і кислій фосфатази визначали у гомогенатах рогівки. Для його приготування отримані зразки розтирали за допомогою гомогенізатора при 4 С і суспендували в 9 об’ємах 0,25 M розчину цукрози з 0,001 M етилендіамінтетраоцтовою кислотою (ЕДТА), рН 7,4. Сполучнотканинні елементи, які залишились в середовищі, видаляли центрифугуванням (1000 об/хв протягом 3 хв) при охолодженні. Надосадову частину гомогенату використовували для визначення активності ферментів.

Активність катепсину D в гомогенаті рогівки визначали методом Дингла [5] у модифікації [11], активність кислій фосфатази (КФ) визначали за методом Bodansky [16] з використанням набору реагентів фірми “Hospitex Diagnostix”.

Результати дослідження та їх обговорення. Як вказують ряд дослідників, основним токсичним субстратом, відповідальним за виникнення стадії автоагресії і ендотоксикозу, є продукти клітинної дезорганізації, неповного розпаду і неферментного перетворення білків крові і тканин. Вони представлені в основному класом середньомолекулярних продуктів протеолізу і оксидативних процесів або молекул середньої маси (МСМ). Підвищення рівня МСМ в крові зумовлене порушенням їх елімінації з організму, посиленням утворення в тканинах, або поєднанням обох механізмів. Середньомолекулярні олігопептиди, будучи продуктами розпаду білків, діють як вторинні ендотоксини, викликаючи розлади метаболічних процесів.

Як показали наші дослідження (табл. 1), у тварин з гіпотирозом вміст МСМ у крові збільшувався, а також спостерігались відмінності у ступені зростання показників МСМ1 і МСМ2, що відображають відповідно вміст ланцюгових (МСМ1) і ароматичних амінокислот в середньомолекулярних пептидах і продуктах їх деградації. Це можна пояснити особливостями метаболізму, які проявляються ймовірною активацією розпаду окиснено модифікованих білків, пригніченням активності гідролаз, які їх розщеплюють, а також порушенням елімінації за умов дефіциту гормонів щитоподібної залози [19, 20].

Опікова травма рогівки приводила до зростання МСМ у всі дні спостереження, при цьому спостерігалось більш виражене підвищення МСМ1, ніж МСМ2. Так, на 1-у добу після нанесення опікової травми рогівки евтироїдним тваринам вміст МСМ1 в крові кролів зріс на 86 %, а вміст МСМ2 – відповідно на 120 % порівняно з інтактними тваринами. Вміст МСМ1 і МСМ2 на 7-у добу експерименту далі зростав і становив 225 і 274 % від норми. На 14-у добу вміст молекул середньої маси суттєво зменшився – МСМ1 до 159 %, а МСМ2 – до 148%. До 21-ї доби показники залишались досить високими і становили відповідно 176 і 180 % (рис.). У тварин з гіпотирозом ми спостерігали більш суттєве зростання показників МСМ, що особливо відрізнялися до завершення терміну спостереження. Зокрема, вміст МСМ1 відрізнявся від аналогічного показника евтироїдних тварин на 44 %, а МСМ2 – на 45 %.

Зростання кількості МСМ в організмі тварин після опіку рогівки вказує на посилення катаболічних процесів. Підвищення вмісту МСМ1, до складу яких можуть входити олігопептиди, фрагменти нуклеїнових кислот, вищих жирних кислот, тригліцеролів, холестеролу, свідчить про порушення структури мембран, а МСМ2, компонентами яких можуть бути пуринові основи, сечова кислота, і ароматичні амінокислоти – про пригнічення процесів їх елімінації [4].

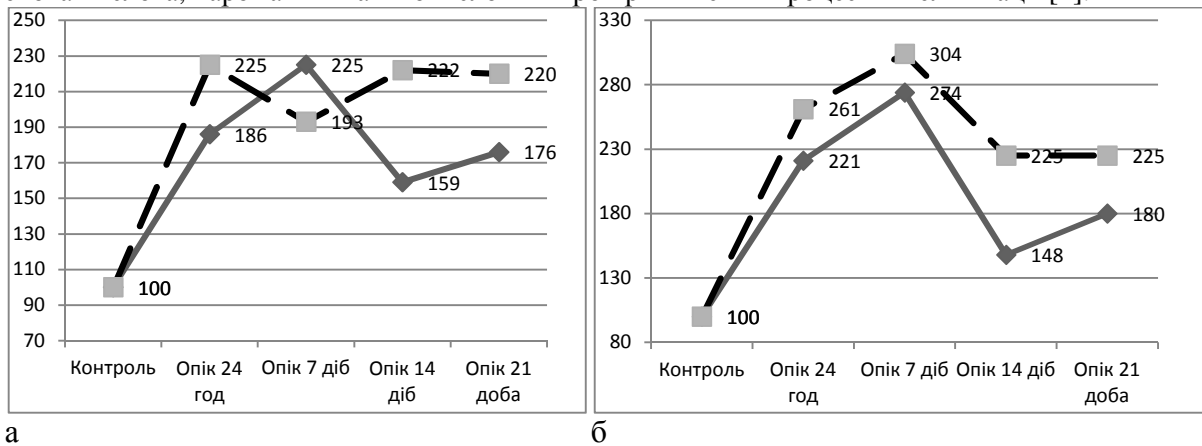


Рис. 1 Динаміка вмісту МСМ1 (А) і МСМ2 (Б) у сироватці крові тварин з хімічним опіком рогівки на тлі гіпотирозу.

Доступною для досліджень клітинних (плазматичних мембран) є еритроцитарна мембрана. Тест проникності еритроцитарних мембран є одним з критеріїв впливу токсичних агентів на плазматичну мембрану, оскільки всередині еритроцита відсутні органели. Порушення цілісності еритроцитарної мембрани, а також зміни властивостей поверхні ліпідного бішару та конформації білків під впливом токсичних речовин змінює функціональну здатність еритроцитів зв'язувати різні сполуки, яка лежить в основі визначення еритроцитарного індекса інтоксикації.

Результати досліджень, представлені в таблиці і на рисунку показують, що дія хімічної травми на рогівку по різному впливала на зазначений показник у тварин зі збереженою і зниженою функцією щитоподібної залози. На 1-у добу експерименту ЕІ у евтироїдних кролів зріс 1,6 раза з поступовим зниженням до 14-ї доби, коли він становив 118 % від норми і подальшим зростанням до 21-ї доби – 150 %. У тварин з гіпотирозом уже на 1-у добу спостереження показник зріс в 1,8 раза з подальшим зростанням до 7-ї доби – 1,9 раза. До 14-ї доби спостерігалось незначне зниження ЕІ у порівнянні з попереднім терміном спостереження (151 %), однак до 21-ї доби він знову зріс і склав 165 % від норми.

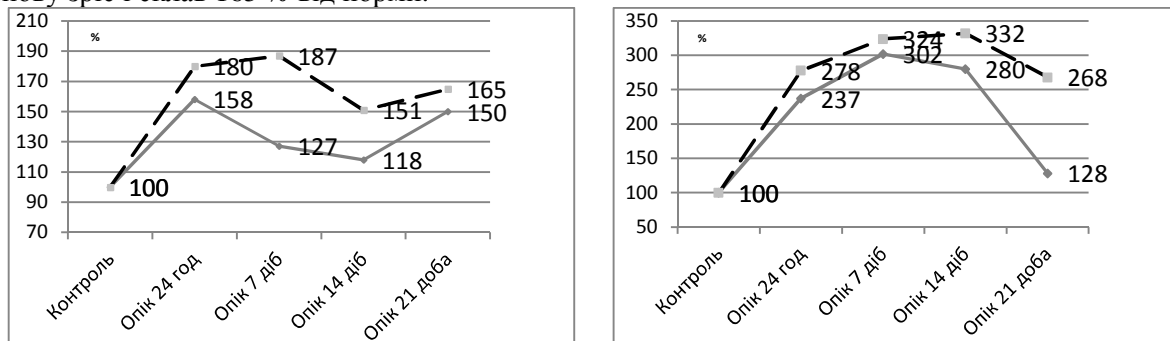


Рис. 2 Динаміка еритроцитарного (А) і лейкоцитарного (Б) індексів інтоксикації у кролів з хімічним опіком рогівки на тлі гіпотирозу.

Суттєве зростання нами відмічено і стосовно лейкоцитарного індекса інтоксикації. В евтироїдних тварин вже на 1-у добу показник зріс в 2,4 раза, на 7-у – у 3 рази, а з 14-ї почав поступово знижуватись і до 21-ї доби склав 128 % від норми. Гіпотироїдний стан спричинився до більш суттєвого зростання ЛШ після нанесення опікової травми рогівки. Зокрема, на 1-у добу показник становив 278 % від рівня здорових тварин, що достовірно вище як від інтактних, так і евтироїдних тварин з гострим хімічним опіком рогівки. Зростання тривало до 14-ї доби, коли показник у 3,3 раза перевищив рівень здорових тварин, а до 21-ї доби дещо зменшився і склав 268 % від норми. Зниження продукування тироїдних гормонів приводить до посилення ендогенної інтоксикації. Причинами цього можуть бути надмірний розпад окиснено модифікованих білків, а також порушення їх метаболізму, зокрема за участі лізосомальних гідролаз, і виведення цих продуктів.

Нами проведено вивчення активності лізосомальних ферментів – катепсину D і кислоти фосфатази у гомогенаті рогівки, щоб перевірити одне з цих припущень. Отримані результати дозволяють констатувати, що на тлі зниженої продукції тироїдних гормонів катаболічні процеси суттєво пригнічуються.

Таблиця 1

Показники ендогенної інтоксикації у крові тварин з хімічним опіком рогівки на тлі мерказоліл-індукованого гіпотирозу, $M \pm m$

Група тварин/показник		МСМ1, ум. од. екст.	МСМ2, ум. од. екст.	ЕП, %	ЛШ, %.
Інтактні, (n = 10)		357,4±10,16	218,5±6,19	29,46±0,84	1,03±0,02
Гіпотироз, (n = 10)		498,1±10,27 p<0,001	267,8±8,34 p<0,001	37,92±0,57 p<0,001	1,24±0,05
Хімічний опік рогівки, (n = 10)	24 год.	684,7±9,53 p1<0,001	482,6±8,18 p1<0,001	46,30±0,42 p1<0,001	2,44±0,06 p1<0,001
	7-а доба	827,9±8,13 p<0,001	597,8±14,71 p1<0,001	37,50±0,61 p1<0,001	3,12±0,06 p1<0,001
	14-а доба	583,6±16,02 p1<0,001	323,1±14,18 p1<0,001	34,88±0,81 p1<0,001	2,88±0,04 p1<0,001
	21-а доба	648,2±11,30 p1<0,001	392,9±11,40 p1<0,001	44,1±1,02 p1<0,001	1,32±0,05 p1<0,001
Хімічний опік рогівки + гіпотироз, (n = 10)	24 год.	826,7±8,51 p1<0,001 p2<0,001	571,2±10,12 p1<0,001 p2<0,001	53,02±1,10 p1<0,001 p2<0,001	2,86±0,06 p1<0,001 p2<0,001
	7-а доба	708,7±11,37 p1<0,001 p2<0,001	665,1±3,81 p1<0,001 p2<0,001	55,22±1,14 p1<0,001 p2<0,001	3,34±0,07 p1<0,001 p2<0,001
	14-а доба	815,5±6,73 p1<0,001 p2<0,001	491,6±7,70 p1<0,001 p2<0,001	44,35±1,11 p1<0,001 p2<0,001	3,42±0,08 p1<0,001 p2<0,001
	21-а доба	809,4±5,33 p1<0,001 p2<0,001	492,2±3,65 p1<0,001 p2<0,001	48,62±1,08 p1<0,001 p2<0,001	2,76±0,06 p1<0,001 p2<0,001

Примітки: тут і у таблиці 2: p – достовірність різниці тварин з гіпотирозом відносно інтактних тварин; p1 – достовірність різниці еутироїдних і гіпотироїдних тварин з хімічним опіком рогівки відносно інтактних тварин; p2 – достовірність різниці тварин з хімічним опіком рогівки на тлі гіпотирозу відносно еутироїдних тварин з хімічним опіком рогівки у відповідні терміни дослідження.

Таблиця 2

Показники активності лізосомальних ферментів у гомогенаті рогівки кролів з її хімічним опіком тлі мерказоліл-індукованого гіпотирозу, $M \pm m$

Група тварин/показник		Катепсин D, мкМ/(мг б-ка × год)	Кисла фосфатаза, мкМ/(мг б-ка × год)
Інтактні, (n = 10)		0,209±0,008	27,03±0,93
Гіпотироз, (n = 10)		0,177±0,007 p<0,001	24,92±0,99 p<0,001
Хімічний опік рогівки, (n = 10)	7 –а доба	0,372±0,009 p1<0,001	45,49±1,29 p1<0,001
	21-а доба	0,293±0,006 p1<0,001	37,23±0,71 p1<0,02
Хімічний опік рогівки + гіпотироз, (n = 10)	7-а доба	0,287±0,005 p1<0,001 p2<0,001	32,61±1,26 p1<0,05 p2<0,001
	21-а доба	0,264±0,007 p1<0,001 p2<0,001	30,05±1,24 p1>0,05 p2>0,05

16. Bodansky O. Acid phosphatase / O. Bodansky // Adv. Clin. Chem. – 1972. – Vol.15. – P.143-147.
17. Boelen A. Interleukin-18, a proinflammatory cytokine, contributes to the pathogenesis of non-thyroidal illness mainly via the central part of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis / A. Boelen, J. Kwakkel, M. Platvoetter Schiphorst // Eur. J. Endocrinol. – 2004. – Vol. 151, №4. – P. 497-502.
18. Isman C.A. Methimazole-induced hypothyroidism in rats ameliorates oxidative injury in experimental colitis / C.A. Isman, B.C. Yegen, I. Alican // J. Endocrinol. – 2003. – Vol. 177, №3. – P. 471-476.
19. Mezosi E. Nongenomic effect of thyroid hormone on free-radical production in human polymorphonuclear leukocytes / E. Mezosi, J. Szabo, E.V. Nagy // J. Endocrinol. – 2005. – Vol. 185, №1. – P. 121-129.
20. Marino F. Thyroid hormone regulation of cell migration and oxidative metabolism in polymorphonuclear leukocytes: clinical evidence in thyroidectomized subjects on thyroxine replacement therapy / F. Marino, L. Guasti, M. Cosentino // Life Sci. – 2006. – Vol. 78, №10. – P. 1071-1077.
21. Rao M. K. Extracellular metabolism of thyroid hormones by stimulated granulocytes / M.K. Rao, A.L. Sagone // Infect Immun. – 1984. – Vol. 43, №3. – P. 846-849.
22. Tenorio-Velazquez V.M. Hypothyroidism attenuates protein tyrosine nitration, oxidative stress and renal damage induced by ischemia and reperfusion: effect unrelated to antioxidant enzymes activities. / V.M. Tenorio-Velazquez, D. Barrera, M. Franco // BMC Nephrol. – 2005. – №6. – P.12.
23. Wiederanders B. Accumulation of inactive cathepsin D in old rats / B. Wiederanders, B. Oelke // Mech. Ageing Dev. – 1982. – Vol. 24. – № 3. – P. 265-271.

Реферати

ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРОЛИКОВ С ХИМИЧЕСКИМИ ОЖОГАМИ РОГОВИЦЫ НА ФОНЕ МЕРКАЗОЛИЛ-ИНДУЦИРОВАННОГО ГИПОТИРОЗА

Савчук З. Л.

С целью изучения влияния экспериментального гипотироза на состояние эндогенной интоксикации у кроликов с химическим ожогом роговицы было проведено определение маркеров эндогенной интоксикации – молекул средней массы, эритроцитарного и лейкоцитарного индексов интоксикации, а также исследовано активность лизосомальных протеаз – катепсина D и кислой фосфатазы. Гипотироз у кроликов вызывали введением мерказолила в дозе 10 мг/кг в течение 60 суток. Химический ожог роговицы моделировали путем аппликации фильтровальной бумаги, смоченной 1 N NaOH в течение 30 секунд. Ожоговая травма роговицы у кроликов на фоне гипотироза сопровождалась подавлением активности лизосомальных ферментов – катепсина D и кислой фосфатазы в гомогенате роговицы и более интенсивным, по сравнению с euthyroidными животными, маркеров эндогенной интоксикации – молекул средней массы, эритроцитарного и лейкоцитарного индексов интоксикации.

Ключевые слова: химический ожог роговицы, гипотироз, эндогенная интоксикация.

Стаття надійшла 17.03.2015 р.

INDICES OF ENDOGENOUS INTOXICATION AT RABBITS WITH THE CHEMICAL BURN OF CORNEA AT THE BACKGROUND OF MERKAZOLIL-INDUCED HYPOTHYROIDISM

Savchuk Z. L.

To study the influence of experimental hypothyroidism on the state of endogenous intoxication at rats with the chemical burn of cornea markers of endogenous intoxication – molecules of average mass, erythrocyte and leukocyte indices of intoxication were determined. It was also investigated the activity of lysosomal proteases – cathepsin D and acid phosphatase. Hypothyroidism at rats was caused by the injection of merkazolil at a dose of 10 mg/kg for 60 days. Chemical burn of cornea was simulated by the application of filter paper saturated with 1 N NaOH for 30 seconds. Burning injury at rats at the background of hypothyroidism was accompanied by the suppression of the activity of lysosomal enzymes – cathepsin D and acid phosphatase in homogenate of cornea and more intense, as compared with euthyroid animals, markers of endogenous intoxication – molecules of average mass, erythrocyte and leukocyte indices of intoxication.

Key words: chemical burns of the cornea, hypothyroidism, endogenous intoxication.

Рецензент Запорожець Т.М.

УДК 577.16+615.356

Н. В. Сальникова

Одеський національний університет ім. В. І. Мечникова, м. Одеса

КІЛЬКІСНЕ ВИДЛЕННЯ КоА, ПАК, 4-Ф-ПН ПРИ ГІПОКСІЇ ЗАМКНЕНОГО ПРОСТОРУ НА ОСНОВІ ІОНООБМІННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Гіпоксія замкнутого простору (ГЗП) призводить до підвищення рівня пантотенової кислоти в печінці і крові. При попередньої ін'єкції препарату ПАК-Са також спостерігається підвищення пантотенової кислоти у крові та печінці.

Ключові слова: пантотенова кислота, 4-фосфопантетеїн, КоА, метаболіти, гіпоксія.

Біохімічна роль пантотенової кислоти і її коферменту А досить добре вивчені [4]. Так само відомо, що КоА є не єдиним ацилюючим метаболітом пантотенату [1, 3]. Відомі численні реакції перенесення ацильних груп, в яких КоА бере участь, як кофермент. Серед них особливо важливе місце належить утворенню і метаболічному перетворенню «активної» оцтової кислоти (ацетил КоА). Біохімічні функції інших виявлених в тварин тканинах похідних ПАК, крім 4-Ф-ПН, що є простетичною групою АПБ, практично обмежуються процесами біосинтезу КоА. Необхідно лише відзначити участь 4-Ф-ПН і дефосфо-КоА в реакціях ферментативного трансацилювання,